

	FICHE TECHNIQUE	ENR-RSP 29	Date: 21/04/2011
		Révision : 00 Page : 1 sur 1	

BLEU DE METHYLENE

PRESENTATION

Réactif prêt à l'emploi :

- Flacon compte goutte 100ml **Réf : CLF01092**

DEFINITION

Le bleu de méthylène est utilisé comme colorant lors de la coloration de Ziehl pour la recherche des Bacilles acido alcool résistants (BAAR).

Lors de la coloration de Ziehl, le bleu de méthylène colore le fond de la préparation au bleu et la fushine de ziehl colore les mycobactéries en rose

CONSERVATION

Les flacons se conservent pendant 2 ans à la température du laboratoire.

MODE D'EMPLOI

1. Préparation de l'échantillon :

- Etaler l'échantillon ou la culture bactérienne à analyser sur une lame de verre avec une anse ayant été préalablement stérilisée avec la flamme du bec Bunsen.
- Laisser la lame sécher à l'air pendant 5 minutes.
- Faire passer lentement l'étalement (côté étalé sur le dessus), trois fois, sur la partie supérieure de la flamme d'un bec Bunsen pour fixer l'échantillon.
- Laisser refroidir pendant 5 minutes

2. Coloration :

- Recouvrir le frottis fixé de Fushine de Ziehl (R1)
- Chauffer doucement à la flamme d'un coton morité sur une tige métallique (ou en verre) trempé dans l'alcool, jusqu'à émission de vapeur (sans faire bouillir) pendant 10 minutes.

—————> Eviter la dessiccation en ajoutant du **R1** au besoin.

- Rejeter le colorant.
- Recouvrir la lame de solution de décoloration : Alcool Acide (**R2**) pendant 5 minutes.
- Rincer abondamment à l'eau distillée avec une pissette.
- Faire une contre coloration au bleu de méthylène (**R3**) pendant 1 minute.
- Laver à l'eau distillée.
- Laisser sécher pendant 5 à 10 minutes.

3. Lecture : La lecture se fait à l'objectif à immersion

Les bacilles BAAR apparaissent colorés en rouge sur fond bleu.